

BAB 5

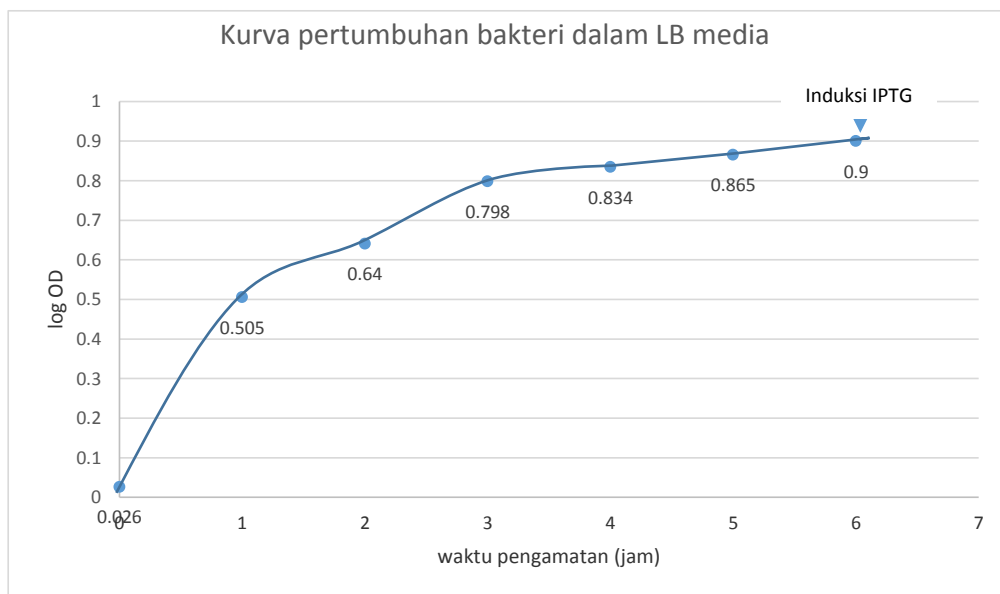
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Pertumbuhan *E.coli*/BL21(DE3)/pMB38

Penelitian ini dilakukan untuk meningkatkan solubilitas protein rekombinan Ag38 kDa *M.tuberculosis* yang diekspresikan dalam *E.coli* dengan perlakuan *heat shock*. Eksperimen ini didahului dengan mengukur pertumbuhan bakteri *E.coli*/BL21(DE3)/pMB38 pada media *Luria Bertani* (LB) dengan mengondisikan bakteri pada suhu 37°C. Pertumbuhan bakteri diamati setiap jam dimulai dari fase lag.

Gambar 5.1 Kurva Pertumbuhan *E.coli*/BL21(DE3)/pMB38 pada Media Selektif *Luria Bertani* (LB)

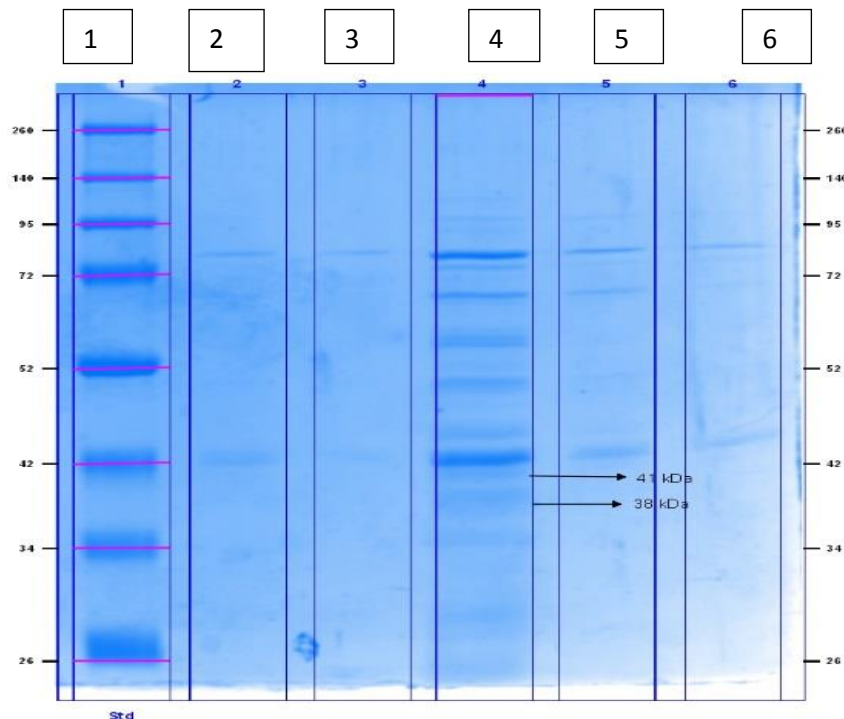


mengandung ampicillin 100µg/mL dengan temperatur 37°C dan kecepatan 2000rpm.

Berdasar pada *optical density*, menunjukkan adanya pembelahan sel *E.coli*/BL21(DE3)/pMB38 yang meningkat setelah satu jam pertama inkubasi dan terus meningkat secara signifikan. Setelah jam keempat, pertumbuhan tidak lagi pada fase eksponensial, namun masuk ke fase pertumbuhan tetap (*stationary phase*) pada jam berikutnya (Gambar 5.1).

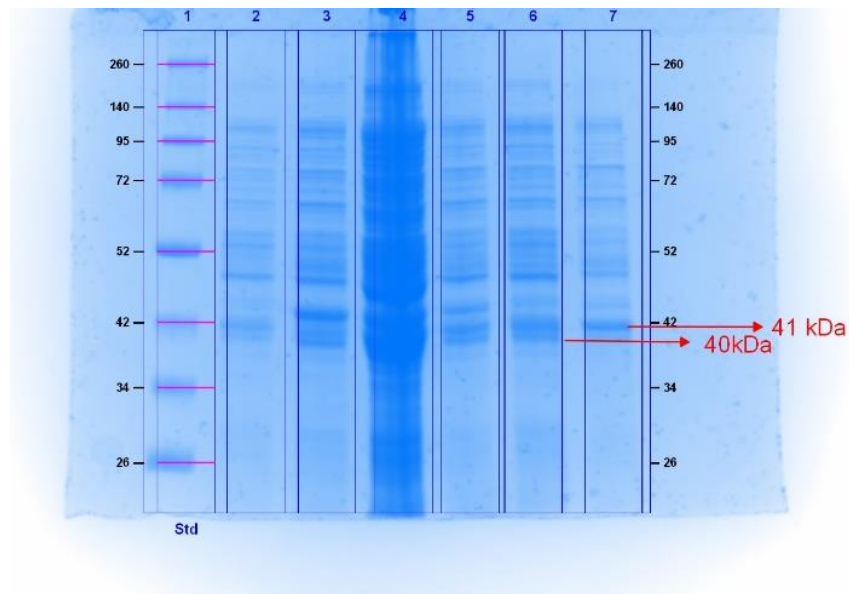
5.1.2 Overekspresi dengan Metode Heat Shock Protein Ag38 kDa

Overekspresi protein Ag38 kDa dilakukan dengan metode *Heat shock* (kejutan panas) untuk meningkatkan kelarutan protein rekombinan Ag38 kDa dari *M. tuberculosis*.



Gambar 5. 2 Hasil SDS PAGE Supernatan Protein Rekombinan Ag38 kDa Sebelum dan Sesudah Perlakuan *Heat Shock*. Sebelum perlakuan *heat shock*, setelah OD 0,9 (2), setelah di panen (3), setelah pemberian IPTG dan dipindah ke *waterbath* suhu 47°C selama 20 menit (4), setelah dipindah ke *shaker* suhu 20°C selama semalam (5), setelah perlakuan *heat shock* (6).

Gambar 5.2 memperlihatkan *crude protein profile* sebelum dan sesudah perlakuan *heat shock*. Tampak Protein Ag 38 kDa terekspresi lemah pada supernatant dan terletak diantara protein dengan berat molekul 35-40 kDa pada kolom 4.



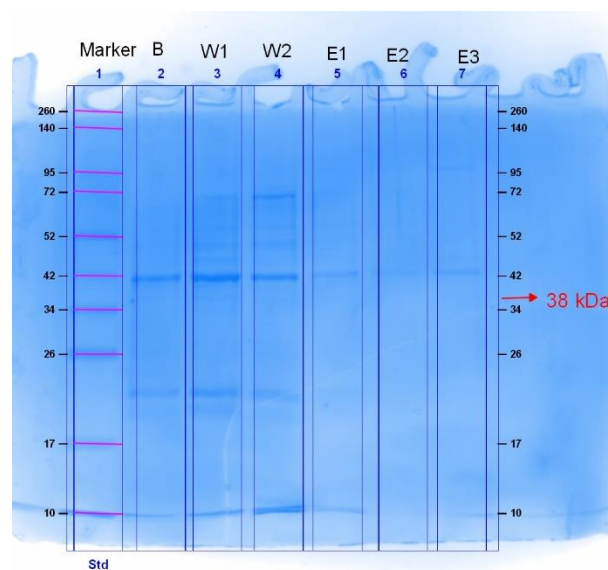
Gambar 5. 3 Hasil SDS PAGE Pellet Protein Rekombinan Ag38 kDa Sebelum dan Sesudah perlakuan *Heat Shock*. Sebelum perlakuan *heat shock*, setelah OD 0,9 (2), setelah di panen (3), setelah pemberian IPTG dan dipindah ke *waterbath* suhu 47°C selama 20 menit (4), setelah dipindah ke *shaker* suhu 20°C selama semalam (5), setelah perlakuan *heat shock* (6), pellet yang akan dipurifikasi (7).

Gambar 5.3 merupakan visualisasi dari profil *crude* protein yang berada di pellet sebelum dan sesudah dilakukan perlakuan *heat shock*. Terlihat bahwa protein Ag38 kDa terekspresi lebih tebal pada pellet dibandingkan yang ada di supernatant, menunjukkan bahwa sebagian protein *inclusion body* berada di kolom pellet. Pita protein Ag38 pada pellet didapatkan pada semua kolom (kolom 2, 3, 4, 5, 6, dan 7) . Dilihat dari ketebalannya, pita pada kolom 4 merupakan pita yang paling tebal jika dibandingkan dengan pita kelompok pellet yang lain. Hal ini di akibatkan jumlah

protein yang di *load* pada kolom 4 lebih banyak jika dibandingkan dengan protein *load* di kolom yang lain.

5.1.3 Purifikasi Protein Rekombinan Ag38 kDa

Setelah mencoba meningkatkan kelarutan protein, peneliti melakukan proses purifikasi dengan tujuan untuk mendapatkan protein Ag38 kDa murni. Purifikasi pada sampel protein Ag38 kDa dilakukan menggunakan kit *Protino Ni-TED 150 Packed Columns* pada kondisi *native*.



Gambar 5.4 Profil Protein setelah Purifikasi Protein Rekombinan Ag38 kDa : Marker (2); Binding (B); Washing 1 (W1); Washing 2 (W2); Elusi 1 (E1); Elusi 2 (E2); Elusi 3 (E3).

Pada gambar profil protein kolom 2 merupakan merupakan visualisasi dari proses *binding*. Semua protein *polyhistidine* diharapkan akan terikat pada resin. Pada kolom berikutnya, merupakan hasil dari proses *washing* 1. Pada kolom ini tampak pita protein Ag38 kDa tipis terletak diantara protein dengan berat molekul 35-40 kDa. Pada

kolom ke-4 merupakan hasil dari proses *washing* 2, di kolom ini masih terdapat pita protein. Sedangkan pada proses elusi (kolom 5, 6, dan 7) dimana pada protein yang terikat pada *polyhistidine* dibilas dengan larutan penyangga yang mengandung imidazol, pita protein terlihat semakin tipis dan hanya protein Ag42 kDa yang masih jelas terlihat.